家蚕蛹-成虫变态期中肠和涎腺超微结构变化与功能

张翠红[1]，崔为正[1]，郭延奎[2]，王彦文[1]，牟志美[1,*]
（1. 山东农业大学林学院，山东泰安 271018；2. 山东农业大学生命科学学院，山东泰安 271018）

摘要：为进一步明确家蚕 *Bombyx mori* 变态期间消化系统的生理功能以及溶茧酶的来源器官，通过透射电镜观察和酶活性检测，对家蚕蛹-成虫变态期中肠和涎腺的超微结构、水解酶活力以及中肠内容物的变化进行了观察和分析。结果表明：蛹第 7 日到羽化前 1 日家蚕中肠细胞和刚羽化成虫的涎腺细胞中，均可观察到大量的分泌泡、分泌颗粒、微绒毛等分泌细胞的结构特征以及活跃的分泌现象。潜成虫的中肠和涎腺中都存在活性较高的水解酶活力，其中每毫克中肠组织中蛋白酶活力、酯酶活力和纤溶酶活力分别为 726 U、751 U 和 263 U，每毫克涎腺组织中上述 3 种酶的活力分别为 603 U、523 U 和 147 U，说明中肠和涎腺可能都具有分泌溶茧酶的功能。家蚕蛹期中肠内容物的主要成分是蛋白质、脂质和糖，三者占内含物总量的 95%以上，其中蛋白质含量占 78.8%～80.2%。中肠内容物的重量在刚化蛹时为 20.1～21.9 mg/头，化蛹后 7 日内无明显变化，化蛹第 9 日内容物重量减少 63.01%～66.17%，到成虫羽化时已所剩无几，可能是因内容物被消化吸收所致。据此推测，在家蚕变态期中肠还具有贮存和释放营养物质的功能，而溶茧酶的另一个功能可能是分解消化中肠内容物。

关键词：家蚕；变态；消化器官；超微结构；分泌功能
中图分类号：S881.2 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2007)08-0769-06

Ultrastructure changes and function of the midgut and salivary glands in *Bombyx mori* during the pupal-adult metamorphism

ZHANG Cui-Hong[1]，CUI Wei-Zheng[1]，GUO Yan-Kui[2]，WANG Yan-Wen[1]，MU Zhi-Mei[1,*]（1. College of Forestry，Shandong Agricultural University，Tai'an，Shandong 271018，China；2. College of Life Sciences，Shandong Agricultural University，Tai'an，Shandong 271018，China）

Abstract：In order to further understand the biological activity of digestive system and the origin of cocoonase of *Bombyx mori* during the pupal-adult metamorphosis，the ultrastructure of the midgut and salivary glands was observed and the hydrolase activity was assayed. The results showed that active secretory characteristics such as a mass of secretory vacuoles，secretory granules and microvilli were observed in the midgut from the 7th day after pupation to one day before emergence and in salivary glands of newly emerged adults. High hydrolase activity existed in the midgut and salivary glands of pharate adults. The activities of protease，esterase and fibrinolytic enzyme were 726 U/mg，751 U/mg and 263 U/mg in the midgut，and 603 U/mg，523 U/mg and 147 U/mg in salivary glands，respectively. This suggests that the midgut and salivary glands were the possible origin of cocoonase. Weight and content analysis of ingredients in the pupal midgut during the pupal-adult metamorphosis showed that protein，carbohydrate and fat are major components，accounting for over 95% of the total weight，of which the proteins accounted for 78.8%－80.2%. The dry weight of the contents in the midgut was 20.1－21.9 mg/head in the early stage of pupation，without obvious change during the 7 days after pupation，but reduced by 63.01%－66.17% on the 9th day after pupation，and was extremely low in the newly emerged adult. The possible reason is that the contents were gradually assimilated and absorbed during the pupal-adult metamorphism. It was so inferred that during the pupal-adult metamorphism the midgut still keep the function of storaging and releasing nutrients，and cocoonase probably has another function of

---

基金项目：山东省自然科学基金项目(2006ZRB01406)
作者简介：张翠红，女，1981 年 8 月生，硕士，研究方向为家蚕生理生化，E-mail：cuihongzhang-007@163.com
* 通讯作者 Author for correspondence，Tel.：0538-8249561；E-mail：zmmu@sdau.edu.cn
收稿日期 Received：2007-03-13；接受日期 Accepted：2007-07-17

decomposing and digesting contents of the midgut.

Key words: *Bombyx mori*; metamorphosis; digestive organs; ultrastructure; secretory function

完全变态昆虫在由幼虫发育为成虫的过程中，其外部形态、内部构造、生理机能和生活习性等各方面均发生了一系列显著的变化，这种变化及其调控机理是昆虫生理学研究的重要内容。作为重要的经济昆虫，国内外蚕学界对家蚕 *Bombyx mori* 研究的重点是如何提高蚕茧的产量和质量，关于家蚕消化系统的研究，以前则主要侧重于幼虫消化系统，对于变态过程中消化系统结构与功能的研究相对欠缺。现有研究认为，家蚕蛹-成虫变态期间消化管主要有两方面的作用：一是合成和分泌溶茧酶，从而使成虫羽化脱茧；二是中肠和后肠可能分别参与无机盐和水分代谢的调节（吴载德，1989）。至于消化管在变态期间的其他生理功能，目前还不甚清楚。另外，家蚕蛹期也有涎腺，涎腺是在蛹期重新形成的，成虫涎腺位于食道前端两侧，以导管开口于口腔（吴载德，1989），其作用至今不明。

关于溶茧酶（cocoonase）的来源器官，Kafatos 等（1967）研究认为，溶茧酶是在蛹到成虫转化期间由下颚表皮细胞分化而成的巨大多倍体细胞合成并分泌的。Selman 和 Kafatos（1975）从超微结构方面对多音天蚕 *Antheraea polyphemus* 溶茧酶原分泌细胞群的研究发现，在从蛹到成虫的变态过程中，下颚特化为分泌溶茧酶的器官。Eguchi 和 Iwamoto（1973，1975）分别在家蚕蛾的中肠和嗉囊液中检测到具有水解丝胶和丝素活性的酶，因此认为，除下颚外，溶茧酶还来源于中肠和嗉囊；并发现家蚕蛾羽化时，必须由中肠和下颚的分泌物同时起作用，蚕蛾才能顺利脱茧，如摘除其中之一，大部分蛾子均不能脱茧而出。王厚伟等（2005）通过对家蚕蛹和成虫的下颚、嗉囊及中肠的组织结构观察及酶活力测定认为，溶茧酶的来源器官不包括嗉囊，而可能仅为下颚和中肠。至于涎腺是否也参与溶茧酶的分泌或活化，目前还不清楚。

鉴于此，我们探讨了家蚕蛹-成虫变态期中肠和涎腺超微结构的变化及其与溶茧有关的水解酶的活力，并测定了变态过程中中肠内容物的变化，旨在进一步明确中肠与涎腺在变态期间和成虫阶段的生理功能，同时也有助于进一步了解溶茧酶的来源器官，以丰富作为模式昆虫的家蚕生理学内容。

1 材料与方法

1.1 材料

供试蚕品种为菁松×皓月，常规桑叶育。于化蛹后第5日、第7日及羽化前1日（潜成虫，化蛹9～10日）取中肠制作电镜切片；以刚羽化的成虫为材料，取涎腺制作电镜切片；中肠内容物的测定，在蛹期每隔2天取材一次。

1.2 方法

1.2.1 透射电镜切片的制作与观察：解剖出的消化管和涎腺，先用3.5%戊二醛前固定，用pH 7.2的磷酸缓冲液冲洗后，再用1%锇酸固定，梯度乙醇脱水，Spurr包埋，LKB-5型超薄切片机切片，醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色，在JEM-1200EX型透射电镜下观察、拍照。

1.2.2 中肠和涎腺酶活力测定样品的制备：以羽化前1日家蚕蛹（潜成虫）为材料，分别摘取中肠和涎腺。用10 mmol/L的磷酸缓冲液（pH 7.3）充分漂洗，以除去其他粘附蛋白。将清洗后的组织置于研钵中，用液氮快速冷冻、研碎。加入20 mL 10 mmol/L磷酸缓冲液将研碎的组织粉末充分溶解，10 000 ×g离心10 min，取上清液，用于酶活力测定。以上操作均在0～4℃下进行。

1.2.3 蛋白酶活力的测定：参照基础生物化学实验（北京师范大学生物系生物化学教研室，1982），以酪蛋白为水解底物测定蛋白水解酶活力，略有改动。

取中肠或涎腺的组织上清液1 mL加入试管中，40℃水浴预热2 min，再加1 mL经预热的2%酪蛋白溶液，精确保温10 min后，立即加入2 mL 0.4 mol/L三氯乙酸以终止反应。继续水浴保温20 min，使残余蛋白质充分沉淀后过滤。然后另取试管，每管中加入1 mL滤液，5 mL 0.4 mol/L碳酸钠和1 mL已稀释的Folin试剂，混匀后保温20 min，测定660 nm处OD值。40℃下每分钟水解干酪素产生1 μg酪氨酸定为一个酶活力单位。重复3次。

1.2.4 酯酶活力的测定：参照Schwert和Takenaka的方法（施特尔马赫，1992）。100 μL涎腺上清液样品与2.9 mL的底物缓冲液（1 mmol/L BAEE，100 mmol/L Tris-HCl，pH 8.0）混合，测定其在波长253 nm的OD值。连续约为5 min内每隔1 min读取OD

值，直至每分钟的 OD 增大值达到恒定为止。重复 3 次。在规定条件下每分钟吸光度增大 0.001 时所需要的酶量定义为一个酶活力单位。

1.2.5 纤维蛋白水解酶活力的测定：参照 Astrup 和 Mullertz(1952)的方法，稍加改进。8.1 mL 1% 的琼脂糖于 55℃时加入 8.1 mL 0.3% 的纤维蛋白原溶液及 0.65 mL 凝血酶(IBP/mL)，混匀倒入平板中，静置冷却。在平板上打孔，取 10 μL 适当稀释的组织上清液，加入到孔中，将平板置于 37℃培养箱中培养 15 h，取出平板。测定溶圈面积，重复 3 次。纤溶酶活力与溶圈面积的大小成正比。用尿激酶制作标准曲线，计算出纤溶酶活力大小。

1.2.6 蛹中肠内容物的质量及其主要成分含量变化的测定：取正常发育的家蚕蛹，解剖取出中肠，用 10 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 7.3)充分漂洗，去掉外层组织，收集中肠内容物，60℃烘 6 h，即得中肠内容物干样。调查蚕蛹不同发育时期中肠内容物的质量；凯氏定氮法测定内容物中蛋白质的含量；蒽酮法测定糖类物质的含量；GB/T5511-1985 脂肪分析仪测定粗脂肪的含量。3 次重复，取平均值。

2 结果与分析

2.1 家蚕变态期间中肠超微结构观察

取化蛹第 5 日、第 7 日和羽化前 1 日(潜成虫)的家蚕中肠进行电镜观察，结果见图 1。化蛹 5 天以后，幼虫期原有的中肠上皮细胞中的杯形细胞和圆筒形细胞等功能细胞已经全部解体，再生细胞分裂、分化形成成虫型中肠上皮细胞。电镜观察表明，家蚕蛹中肠上皮细胞呈单层柱状排列(图 1：A1，C1)，细胞质内有大量分泌泡，向肠腔一侧有发达的肠绒毛，分泌泡通过肠绒毛向肠腔分泌(图 1：A3，B2，B3)。在化蛹第 5 日和第 7 日的家蚕中肠细胞中，分泌泡内含有大量电子密度高的分泌颗粒(图 1：A2，B1)。而在羽化前 1 日的家蚕中肠细胞中，分泌泡内基本没有这种颗粒(图 1：C1，C3)，肠绒毛也呈现退化状态(图 1：C3)。该结果表明，中肠在变态期间具有分泌功能，其分泌旺盛期在化蛹后第 5～7 日，羽化前 1 日分泌活动基本停止。此外，中肠细胞内还可观察到一种不含分泌颗粒，而含有电子密度较低的结晶状物质的分泌泡(图 1：B3)。

2.2 家蚕成虫涎腺的超微结构观察

刚羽化成虫的涎腺超微结构见图 2。成虫涎腺由单层腺细胞层构成(图 2：A1)，细胞核较大，呈不规则形状(图 2：A3)，细胞质内有较丰富的粗面内质网(图 2：A5)；细胞质和细胞膜上有电子密度高的分泌颗粒(图 2：A3，A4)；腺腔内有液泡状分泌物(图 2：A1)和电子密度稍低的分泌小颗粒(图 2：A1，A2)。此结果表明，涎腺细胞具有分泌细胞的一些基本特征，具有分泌功能。

2.3 家蚕潜成虫中肠和涎腺中水解酶活力检测

取羽化前 1 日家蚕蛹(潜成虫)的中肠和涎腺，分别测定蛋白酶、酯酶和纤溶酶的活力。结果表明：中肠和涎腺中 3 种酶均具有一定的活性，其中每毫克中肠组织中蛋白酶活力、酯酶活力和纤溶酶活力分别为 726 U、751 U 和 263 U；每毫克涎腺组织中以上 3 种酶的活力分别为 603 U、523 U 和 147 U(表 1)。

表 1 家蚕潜成虫中肠和涎腺中三种酶的活力

Table 1 Activity of three enzymes in the midgut and salivary glands of *Bombyx mori* pharate adults

器官 Tissue	酶活力 Enzyme activity (U/mg)		
	蛋白酶 Protease	酯酶 Esterase	纤溶酶 Fibrinolytic enzyme
中肠 Midgut	726 ± 3.0	751 ± 9.8	263 ± 7.0
涎腺 Salivary gland	603 ± 5.3	523 ± 3.6	147 ± 5.3

注 Notes：表中数据为平均值 ± 标准差。The data in the table are mean ± *SD*.

2.4 家蚕蛹-成虫变态期间中肠内容物的变化

实验发现，家蚕在变态期间，中肠由长圆筒形逐渐萎缩变成扁圆形，肠腔内充满深褐色无定形物质，蛹后期这些物质逐渐减少。对中肠内容物的质量及其主要成分的测定结果(表 2)表明：化蛹初期中肠内容物质量大约为每头 20 mg 左右，约占蛹体干重的 7% 左右，雌蛹的内容物多于雄蛹，除化蛾第 1 天外，其余时期均存在极显著差异($P < 0.01$)。中肠内容物的主要组分是蛋白质、糖类和脂肪，蛹前期 3 种物质合计占内含物总量的 95% 以上，其中以蛋白质含量最多。各种成分的含量也均是雌性多于雄性，并存在显著($P < 0.05$)或极显著($P < 0.01$)差异。中肠内容物的重量在化蛹后 7 日内无明显变化，化蛹第 9 日内容物重量明显减少，雌蛹减少 63.01%，雄蛹减少 66.17%，到成虫羽化时已所剩无几，有的个体中肠几乎没有内容物。此外，中肠内容物不仅总量在蛹后期显著减少，其组成成分也发生了明显的变化，蛋白质、糖类和脂肪的含量逐渐降低，其中蛋白质含量减少最显著，糖类次之，脂肪变化最小。

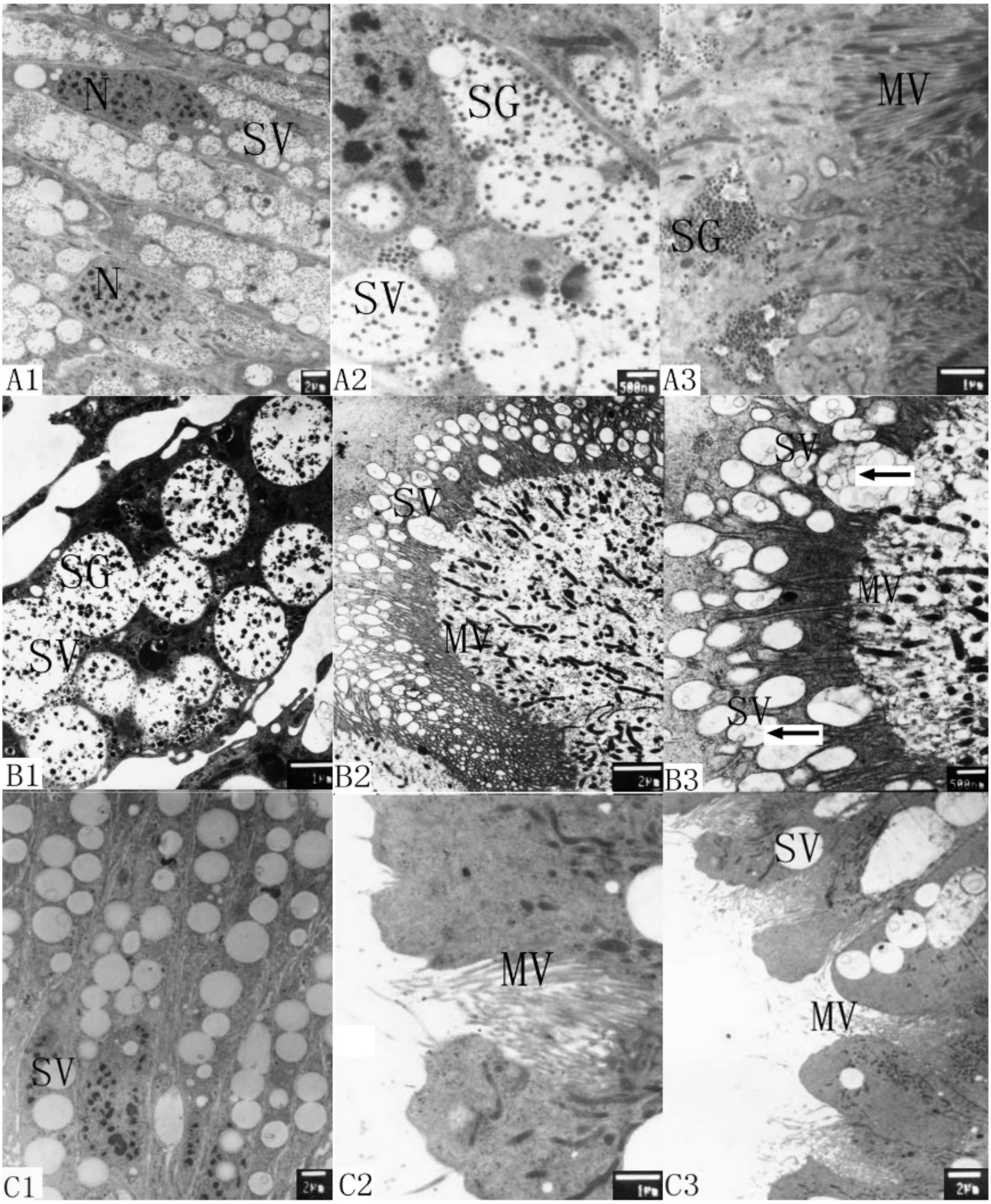


图 1 家蚕蛹-成虫变态期间中肠超微结构的变化

Fig. 1 Ultrastructure of the midgut of *Bombyx mori* during the pupal-adult metamorphosis

A1～A3：**化蛹第 5 日家蚕中肠电镜照片** The midgut of pupa on the 5th day after pupation under TEM（A1：**标尺** Scale bar = 2 μm；A2：**标尺** Scale bar = 500 nm；A3：**标尺** Scale bar = 1 μm）. B1～B3：**化蛹第 7 日家蚕中肠电镜照片，箭头示无机盐结晶颗粒** The midgut of pupa on the 7th day after pupation under TEM（B1：**标尺** Scale bar = 1 μm；B2：**标尺** Scale bar = 2 μm；B3：**标尺** Scale bar = 500 nm）. C1～C3：**化蛾前 1 日家蚕中肠电镜照片** The midgut of pupa one day before emergence under TEM（C1：**标尺** Scale bar = 2 μm；C2：**标尺** Scale bar = 1 μm；C3：**标尺** Scale bar = 2 μm）. SV：**分泌泡** Secretory vacuole；N：**细胞核** Nucleolus；SG：**分泌颗粒** Secretory granule；MV：**微绒毛** Microvilli.

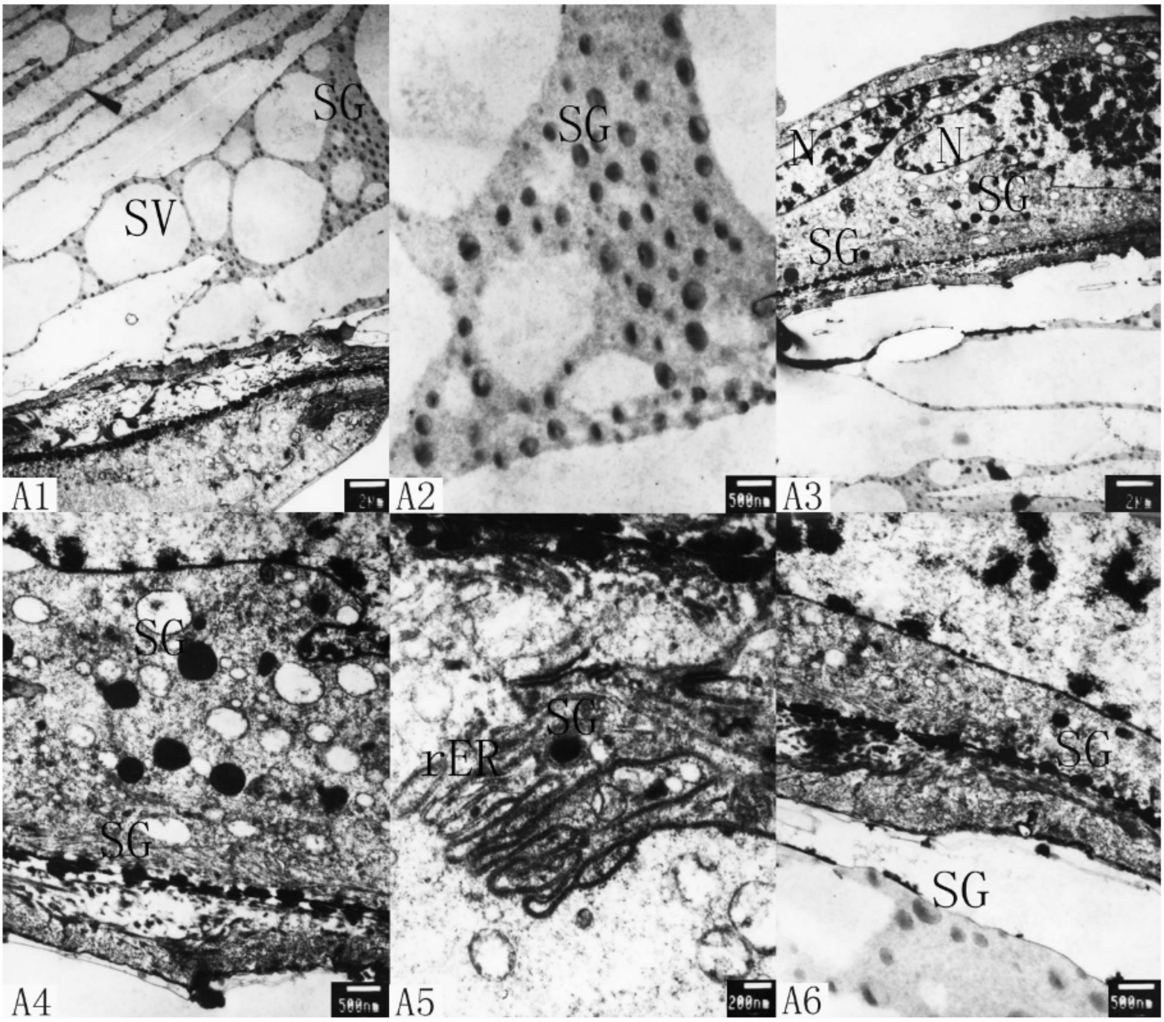


图 2　家蚕刚羽化成虫的涎腺超微结构

Fig. 2　Ultrastructure of the salivary glands of the newly emerged adults of *Bombyx mori*

A1：涎腺整体细胞结构电镜照片 Ultrastructure of the salivary glands under TEM（标尺 Scale bar = 2 μm）；A2：腺腔内放大的分泌颗粒电镜照片 The amplified secretory granule（SG）in the lumen under TEM（标尺 Scale bar = 500 nm）；A3：涎腺细胞的细胞核以及分泌颗粒电镜照片 The nucleolus（N）and SG of the cell under TEM（标尺 Scale bar = 2 μm）；A4：涎腺细胞中放大的分泌颗粒电镜照片 The amplified SG in the cell under TEM（标尺 Scale bar = 500 nm）；A5：涎腺细胞中的内质网电镜照片 The rough endoplasmic reticulum（rRE）in the cell under TEM（标尺 Scale bar = 200 nm）；A6：涎腺细胞的分泌颗粒变化 The variety of the SG cell under TEM（标尺 Scale bar = 500 nm）. SG：分泌颗粒 Secretory granule；SV：分泌泡 Secretory vacuole；N：细胞核 Nucleolus；rER：粗面内质网 Rough endoplasmic reticulum.

表 2　家蚕蛹-成虫变态期间中肠内容物的质量及其主要成分含量的变化

Table 2　Changes of weight and content of ingredients in the pupal midgut during the pupal-adult metamorphosis

发育阶段 Developmental stage	内容物干重(mg/头) Dry weight of content (mg/head)		内容物成分及含量 Ingredient and content (%)					
			蛋白质 Protein		糖类 Carbohydrate		脂肪 Fat	
	♀蛹 Pupa ♀	♂蛹 Pupa ♂	♀蛹 Pupa ♀	♂蛹 Pupa ♂	♀蛹 Pupa ♀	♂蛹 Pupa ♂	♀蛹 Pupa ♀	♂蛹 Pupa ♂
化蛹第 1 日 1st day after pupation	21.9 ± 0.17 A	20.1 ± 0.20 B	80.2 ± 0.55 a	78.7 ± 0.43 b	13.5 ± 0.35 a	12.7 ± 0.17 b	2.70 ± 0.02 a	2.68 ± 0.04 a
化蛹第 3 日 3rd day after pupation	21.8 ± 0.45 A	19.9 ± 0.20 B	78.4 ± 0.62 a	76.2 ± 0.26 b	12.4 ± 0.30 a	11.6 ± 0.20 b	2.23 ± 0.03 a	2.13 ± 0.04 b
化蛹第 5 日 5th day after pupation	21.7 ± 0.26 A	19.6 ± 0.25 B	76.7 ± 0.20 A	75.3 ± 0.26 B	11.6 ± 0.30 A	10.2 ± 0.30 B	2.12 ± 0.03 a	2.02 ± 0.03 b
化蛹第 7 日 7th day after pupation	21.7 ± 0.20 A	19.7 ± 0.20 B	72.7 ± 0.17 A	70.5 ± 0.36 B	10.8 ± 0.17 A	9.80 ± 0.17 B	1.84 ± 0.03 A	1.70 ± 0.03 B
化蛹第 9 日 9th day after pupation	8.1 ± 0.26 A	6.8 ± 0.10 B	69.8 ± 0.17 A	68.8 ± 0.26 B	9.76 ± 0.02 A	8.76 ± 0.02 B	1.76 ± 0.02 A	1.64 ± 0.03 B
化蛾前 1 日 1 day before emergence	7.0 ± 0.26 A	5.9 ± 0.26 B	68.0 ± 0.26 A	67.1 ± 0.12 B	9.65 ± 0.03 A	8.65 ± 0.01 B	1.63 ± 0.03 A	1.53 ± 0.02 B
化蛾后 1 日 1 day after emergence	1.0 ± 0.10 a	0.7 ± 0.17 a	50.7 ± 0.44 A	47.8 ± 0.26 B	8.61 ± 0.02 A	7.61 ± 0.02 B	1.54 ± 0.02 A	1.42 ± 0.02 B

注 Notes：表中数据为平均值 ± 标准差。同行同一成分雌雄之间数据后具有不同字母表示差异显著；不同大写字母之间表示差异极显著（$P < 0.01$），不同小写字母之间表示差异显著（$P < 0.05$）（t 检验）。The data in the table are mean ± *SD*. Data of the same ingredient in the same row followed by different letters are significantly different; the different capital letters indicate extremely significant difference at $P < 0.01$ by t test, while the different lowercase letters indicate significantly difference $P < 0.05$ by t test.

3 讨论

综合以上实验结果说明，家蚕蛹中后期的中肠和刚羽化的成虫的涎腺从超微结构上来看，均具有分泌细胞的结构特征，并可观察到活跃的分泌现象。通过酶活力检测发现，中肠和涎腺中都存在活性较高的蛋白酶、酯酶和纤维蛋白水解酶活力，这是家蚕蛾吐出液中"溶茧酶"所具有的特性（王厚伟等，2005）。从以上两个方面可以证明，中肠和涎腺均参与了溶茧酶的分泌。

前人研究已经证实，溶茧酶由中肠和下颚分别分泌（Kafatos *et al*.，1967；Eguchi and Iwamoto 1973，1975；Selman and Kafatos，1975；王厚伟等，2005）。而作为家蚕消化系统重要组成部分的涎腺，在幼虫期具有分泌涎液、辅助消化和促进吞咽食物的作用。但家蚕成虫期不取食，无需分泌涎液。变态期间消化系统的主要功能之一是分泌溶茧酶，以使蚕蛾羽化时顺利脱茧。因此推测，涎腺的功能很可能也与溶茧有关。本研究初步证明，潜成虫的涎腺组织中的确存在溶茧酶的活力，涎腺腺腔内电子密度稍低的分泌小颗粒（图 2：A1，A2），可能是由细胞内电子密度高的颗粒在腺腔中被溶解稀释而成（图 2：A6），这些分泌物极有可能就是溶茧酶。但是鉴于尚未从涎腺中分离纯化出溶茧酶，再者成虫下颚中的溶茧酶结晶是否包含了涎腺所分泌的部分，这仍是今后需要进一步研究的课题。

关于家蚕变态期间中肠的生理功能，目前认为主要是分泌溶茧酶和参与无机盐代谢（吴载德，1989）。本实验也观察到，在化蛹第 7 天的家蚕中肠细胞内含有电子密度较低的结晶物（图 1：B3），这很可能就是钙盐结晶，与变态期间中肠参与无机盐的代谢调节有关。

黄志君等（2006）对家蚕中肠的变态过程进行了较为详细的观察，发现在变态前期中肠肠腔内出现大量无定形细胞团块，这些细胞团块有两个来源，一是由旧肠壁细胞不断与肠壁分离向内脱落进肠腔形成无定形团块；二是肠壁内折，形成内陷，内陷外围的再生细胞不断生长成新的肠壁，脱落于肠腔内的旧肠壁细胞变成了无定形团块。这种无定形细胞团块，可能就是本实验测定的蛹期中肠的内容物的来源。测定结果表明，中肠内容物的主要成分是蛋白质、脂质和糖等营养物质，在化蛹第 9 日以后中肠内容物的质量迅速减少，这可能有两种去向，一是被消化吸收，二是进入直肠囊成为蛾尿（成虫排泄物）。但蛾尿的主要成分是水、尿酸、无机盐等（吴载德，1989），蛋白质等营养物质的含量极少。由此说明，中肠内容物是被消化吸收了。一般认为，对于成虫期不取食的完全变态昆虫，成虫器官发生所需要的物质，主要由幼虫组织解体后释放的营养供给，蛹期和成虫期生命活动所需要的能量，主要靠贮存在脂肪体中的营养物质供应。但从本实验结果来看，家蚕在变态期间中肠也可能具有贮存和释放营养物质的功能；"溶茧酶"中的蛋白酶和酯酶的另一个功能可能是分解消化脱落到肠腔中的旧肠壁细胞残余物即中肠内容物。其详细机制和意义有待于进一步研究。

参考文献（References）

Astrup T，Mullertz S，1952. The fibrin plate method for plate estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochem. Biophys.*，40：346 – 351.

Department of Biology，Beijing Normal University，1982. Basic Biochemical Experiments. Beijing：High Education Press. 142 – 145.［北京师范大学生物系生物化学教研室，1982. 基础生物化学实验. 北京：高等教育出版社. 142 – 145］

Eguchi M，Iwamoto A，1973. Proteases in the crop fluid and maxillae in the silkworm *Bombyx mori*：Hydrolysis of casein，solubilized fibroin and native protein and native proteins. *J. Sericult. Sci. Japan*，42(5)：363 – 367.

Eguchi M，Iwamoto A，1975. Effect of cocoonases in the midgut，crop and maxillae of silkworm *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci. Japan*，44(5)：314 – 320.

Huang ZJ，Zhong YJ，Deng XJ，He XR，Liang H，Pan Z，2006. Observation of the midgut and silk gland in silkworm during pupal-adult metamorphosis. *Journal of South China Agricultural University*，27(2)：100 – 103.［黄志君，钟仰进，邓小娟，贺湘仁，梁红，潘忠，2006. 家蚕中肠与丝腺变态发育的组织切片观察. 华南农业大学学报，27(2)：100 – 103］

Kafatos FC，Tarkoff AM，Law JH，1967. Cocoonase. Ⅰ. Preliminary characterization of a proteolytic enzyme from silk moths. *J. Biol. Chem.*，242 (7)：1 477 – 1 487.

Selman K，Kafatos FC，1975. Differentiation in the cocoonase producing silkmoth galea：ultrastructural studies. *Dev. Biol.*，46 (1)：132 – 150.

Stellmach B (Translated by Qian JY)，1992. Determination of Enzyme. Beijing：China Light Industry Press. 17 – 19.［施特尔马赫 B.（钱嘉渊译），1992. 酶的测定方法. 北京：中国轻工业出版社. 17 – 19］

Wang HW，Zhang CH，Cui WZ，Liu XL，Zhou YC，Cai YM，Mu ZM，2005. Studies on secretory organs of cocoonase and silkworm-vomiting fluid of silkworm，*Bombyx mori*. *Science of Sericulture*，31(2)：136 – 140.［王厚伟，张翠红，崔为正，刘小龙，周元聪，蔡幼民，牟志美，2005. 家蚕蛾溶茧酶分泌器官及蛾吐出液的研究. 蚕业科学，31(2)：136 – 140］

Wu ZD，1989. Silkworm Anatomy and Physiology. Beijing：Agriculture Press. 36 – 37，60 – 62.［吴载德，1989. 蚕体解剖生理学. 北京：农业出版社. 36 – 37，60 – 62］

（责任编辑：黄玲巧）